

AMO-1 rakud | 305525

Üldine teave

Description

AMO-1 rakuliin on pahaloomulisest plasmarakkude kasvajast saadud hulgemüeloomi mudel. Seda kasutatakse laialdaselt uuringutes, milles uuritakse ravimite tundlikkuse, apoptoosi ja kasvajakude signaalimise mehhanisme hulgemüeloomi puhul. AMO-1 rakud on tundlikud mitmesuguste kemoterapiavahendite ja sihtotstarbeliste ravimeetodite suhtes, nagu proteasoomi inhibiitorid ja türosiinkinaasi inhibiitorid, mis on muutunud hulgemüeloomi ravis otsustava tähtsusega. Uuringud on näidanud, et ravi põrna türosiinkinaasi (Syk) inhibiitoritega põhjustab AMO-1 rakkudes märkimisväärset proliferatsiooni pärssivat ja apoptoosi soodustavat toimet. See toime toimub oluliste signaaliteede, sealhulgas MAPK ja NF-kappaB, pärssimise kaudu ning selle tunnuseks on tsütokroom c vabanemise suurenemine ja apoptoosimarkerite, nagu kaspas-3 ja PARP-1, aktiveerumine. Lisaks vähendab Syk-i pärssimine rakkude rännet ja interaktsiooni luuüdi strooma komponentidega, piirates veelgi müeloomirakkude ellujäämist.

AMO-1-rakud on osutunud tundlikuks ka Notch3-p53-teljele suunatud looduslikele ühenditele, nagu näiteks sofokarpiini derivaadid. Need ühendid vähendavad rakkude eluvõimelisust, vähendades antiapoptootiliste valkude (nt Bcl-2) ekspressiooni ja suurendades proapoptootiliste faktorite (nt Bax ja lõhustunud kaspas-3) ekspressiooni. Lisaks vähendab sofokarpiinravi Notch3 ekspressiooni – see signaalrada on seotud kasvajate progresseerumisega müeloomi ja teiste vähivormide puhul. See teeb AMO-1-st tõhusa mudeli Notch-signaalmist ja p53 poolt vahendatud apoptootilisi signaalradasid mõjutavate ravimite testimiseks. Immunoteraapia kontekstis tunnistavad γδ-T-rakud AMO-1-rakke rakkudevahelise adhesiivmolekuli-1 (ICAM-1) ekspressiooni kaudu ning transfektsioon ICAM-1 ekspressiooni suurendamiseks tõstab nende vastuvõtlikkust T-rakkude poolt vahendatud lüüsil. See omadus toetab müeloomile suunatud immunoteraapiate uuringuid kui alternatiivset lähenemisviisi ravile resistentsete juhtumite puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Astsiit

Disease

Müeloomi hulgemüeloom

Synonyms

AMo1, AMO1

Omadused

Age

64 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Jaapani

Morphology

Ümmargused rakud

Growth properties

Peatamine

AMO-1 rakud | 305525

Regulatiivsed andmed

Citation	AMO-1 (Cytioni katalooginumbr 305525)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1806

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile	Geenifusioon: IGKV1-8-IGKJ1; Geenifusioon: IGKV3-20-IGKJ2; Mutatsioon: BCOR, p.Gln312del (c.932_934AGC[1]) (c.935_937delAGC), heterosügootne; Mutatsioon: KRAS, p.Ala146Thr (c.436G>A), heterosügootne; Mutatsioon: STAT3, p.Cys712Tyr (c.2135G>A), heterosügootne; Mutatsioon: TET2, p.Gln1699Ter (c.5095C>T), heterosügootne
--------------------	--

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada keskkonda 20% FBS-ga
Subculturing	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
Seeding density	3–5 × 10 ⁵ /ml
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbr 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AMO-1 rakud | 305525

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

AMO-1 rakud | 305525

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.